



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**
Institutionen för kliniska vetenskaper

Effekt av utvärtes behandling med pulserande infrarött och rött ljus på häst - med avseende på svullnad i hud

Evelina Bergström

*Uppsala
2018*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2018:50*

Effekt av utvärtes behandling med pulserande infrarött och rött ljus på häst- med avseende på svullnad i hud

Effect of external treatment with pulsating infrared and red light in horses- concerning dermal swelling

Evelina Bergström

Handledare: Anna Bergh, institutionen för kliniska vetenskaper

Biträdande handledare: Elin Hernlund, institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examinator: Marianne Jensen Waern, institutionen för kliniska vetenskaper

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0830

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2018

Delnummer i serie: Examensarbete 2018:50

ISSN: 1652-8697

Elektronisk publicering: <https://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: infrarött ljus, biostimulering, svullnad, ödem, våglängd 950/ 640nm, ledljus, fototerapi, inflammation, häst

Keywords: infrared light, biostimulation, swelling, edema, wavelength 950/ 640nm, light-emitting diode, phototherapy, inflammation, equine/horse

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

SAMMANFATTNING

Sårskador kan drabba alla hästar, som en komplikation till trubbigt eller vasst våld etc. I samband med sår uppstår ofta en svullnad i omkringliggande vävnad vilket bidrar till smärta och obehag och kan hindra optimal sårhäkning. Komplikationer till sårhäkning kan leda till förlängd läkningstid och konvalescens.

Behandling med infrarött och synligt ljus anses ha många effekter, bland annat att påskynda sårhäkning. Inga studier har hittats där man undersökt hur infrarött och synligt ljus påverkar svullnad i samband med sårskador hos häst. Därför undersöktes detta i aktuellt examensarbete.

I studien ingick åtta varmblodstravare. På vardera sidan om halsen stansades ett sår, 2 cm i diameter, efter lokalbedövning. Efter lottning behandlades såret på halsens ena sida med pulserande infrarött ljus (med våglängd 950 nm) och synligt rött ljus (640 nm), den andra sidan behandlades inte. Ljusbehandlingarna skedde en gång om dagen i fyra veckor, ingen behandling gavs lördagar och söndagar. Hästarna erhöll totalt 20 behandlingar. Dag 0, 1, 2, 3, 4, 7, 14, 21, 28 och 36 utfördes fyra registreringar runt varje sår med diagnostiskt ultraljud: kranialt, kaudalt, dorsalt och ventralt om sårkanterna. Vid dessa tillfällen mättes avståndet mellan kutis och den underliggande muskelns fascia.

Såren utvärderades subjektivt dagligen av en för behandlingen blindad person med avseende på exsudat, svullnad, sårstorlek, smärta och lukt. Samma blindade person gjorde även bedömningar av svullnadens höjd och bredd på samma lokalisationer som vid registreringen med det diagnostiska ultraljudet

I varje ultraljudsbild mättes avståndet från kutis till fascia på underliggande muskel, dels där svullnaden ansågs vara som störst (MAX) samt även på mitten av bilden (MITT). För statistiska beräkningar utfördes en ANOVA på data från ultraljudet samt från den subjektivt uppmätta svullnaden. Detta för att kunna se om några skillnader förelåg över tid.

Behandling med pulserande infrarött och synligt rött ljus med 950/ 640 nm visade inga signifikanta skillnader i svullnad mellan behandlat och obehandlat sår mätt med ultraljud (MAX $p=1,0$, MITT $p=0,90$) eller den subjektivt uppmätta svullnaden ($p=0,13$).

Resultaten i denna studie visade att behandling med pulserande infrarött och synligt rött ljus (950/ 640 nm) inte hade någon effekt på graden av svullnad under sårhäkningen av experimentellt inducerade sår jämfört med ingen behandling.

SUMMARY

Wounding is relatively common among horses, as a complication to lacerations or blunt force trauma etc. When a wound occurs, swelling in the surrounding tissue leads to pain, discomfort and can extend healing time and convalescence.

Treatment with pulsating infrared and red visible light is considered to have many positive effects, including enhanced wound healing. However, no studies have been found that evaluates the effects of pulsating infrared and red visible light on swelling around equine wounds. Thus, this is the subject for the present master thesis.

Eight warm blood trotters participated in this study. After local anesthetics, a wound, about 2 cm in diameter, was made on either side of the neck. After randomization, one of the wounds were treated with pulsating infrared light (wavelength 950 nm) and visible red light (640nm). The other side was left untreated. The wounds were treated once a day, five days a week for 4 weeks. In total, each horse received 20 treatments. On day 0, 1, 2, 3, 4, 7, 14, 21, 28 and 36, four registrations were made around each wound with a diagnostic ultrasound. The registrations were taken cranially, caudally, dorsally and ventrally of the edges of the wounds. At these occasions the measures between cutis and the fascia of the underlying muscle was taken.

The wounds were subjectively assessed daily concerning exudate, swelling, wound size, pain and scent. The height and width of the swelling was evaluated on the same locations as the diagnostic ultrasound was performed. The examiner was blinded for the treatment.

In every ultrasound picture two measurements were taken. One where the distance between cutis and the fascia of the underlying muscle was the largest (MAX) and one in the middle of the picture (MITT). For statistical measurement, an ANOVA was performed on the data regarding ultrasound and the subjectively assessed swelling.

Treatment with pulsating infrared and red visible light (950/640nm) didn't show any significant differences in swelling between treated and untreated wounds measured with ultrasound (MAX $p=1,0$, MITT $p=0,90$) or the subjective assessment ($p=0,13$).

The results in the present study showed that treatment with pulsating infrared and red visible light (950/640nm) didn't have any effect on swelling during wound healing in experimentally induced wounds, compared to no treatment.

INNEHÅLL

Inledning	1
Syfte	1
Litteraturoversikt	2
Sårläkning	2
Svullnad och dess konsekvenser	4
Metoder att mäta svullnad	5
Olika typer av ljus	6
Effekter av ljusbehandling	7
Material och metod	12
Hästar	12
Tekniker	12
Protokoll	12
Statistisk bearbetning	14
Resultat	15
Svullnadens lokalisation	15
Objektiv bedömning av svullnad med diagnostiskt ultraljud	15
Subjektiv bedömning av svullnad	17
Diskussion	18
Sammanfattning	18
Svullnadens lokalisation	18
Objektiv bedömning av svullnad med diagnostiskt ultraljud	18
Subjektiv bedömning av svullnad	19
Begränsningar	19
Felkällor	20
Förslag på framtida studier	22
Konklusion	23
Tack	24
Referenser	25

INLEDNING

Sårskador kan drabba alla hästar som en komplikation till trubbigt eller vasst våld etc. Komplikationer vid sårsläkning kan leda till förlängd läkningstid och konvalescens. En vanlig komplikation hos häst är överproduktion av granulationsvävnad, svallkött, vilket ofta måste åtgärdas med debridering (Hendrickson, 2012a; b). I samband med sår uppstår även svullnad i omkringliggande vävnad. Svullnaden i sig bidrar till smärta och obehag och kan hindra optimal sårsläkning (Kao & Garner, 2000). Behandling av svullnad vid sårskada kan bl a bestå av undertrycksbehandling och administrering av NSAID (Hendrickson, 2012a).

En behandling som anses kunna minska svullnader och påskynda sårsläkning är ljusbehandling med pulserande infrarött (med våglängd 640 nm) och synligt ljus (950 nm). Denna ljusterapi påstås, av tillverkare (*Biolight Equine*), kunna tillföra energi till cellerna samt öka blodcirkulationen, vilket skulle leda till en ökad läkningshastighet vid sen-, led-, muskel- och sårskador. Behandlingen påstås även underlätta borttransport av slaggprodukter från ödem och svullnad, verka antiinflammatoriskt och antibakteriellt. Dessutom påstås behandlingen leda till färre skador och bättre prestation.

Då svullnad kan yttra sig på många olika sätt finns idag ingen gold-standard för att mäta och utvärdera svullnad på ett objektivt sätt (Cho & Atwood, 2002). En objektiv metod är diagnostiskt ultraljud. Detta sätt har tidigare använts bl a för att mäta och utvärdera ödem i huden s k pittingödem (Agarwal *et al.*, 2005).

Syfte

Syftet med aktuell studie var att undersöka om ljusbehandling med pulserande infrarött och synligt ljus med våglängder 950/640 nm minskar graden av svullnad vid sår jämfört med ingen behandling. Detta utvärderas objektivt med diagnostiskt ultraljud och subjektivt med okulär bedömning.

Frågeställningar:

Var det någon signifikant skillnad i svullnadsgrad mellan de två såren under läkningstiden, utvärderat med diagnostiskt ultraljud?

Var det någon signifikant skillnad i svullnadsgrad mellan de två såren under läkningstiden, utvärderat med subjektiv bedömning?

Var det någon skillnad i bedömningen av svullnad mellan diagnostiskt ultraljud och subjektiv bedömning?

LITTERATURÖVERSIKT

Artiklar har sökts i Pubmed, Google scholar, Cochrane library och SLUs databas Primo med sökorden eller kombinationer av orden: infrared light, biostimulation, swelling, edema/oedema, wavelength 640/950nm, led light, light-emitting diode, phototherapy, inflammation, equine/horse. Referenser har även valts ut från utvalda artiklars källhänvisningar. Relativt få relevanta artiklar som berör ämnet hittades. Det finns mycket forskning avseende ljusbehandlingar, men få där svullnad i samband med sårskada studerats.

Sårläkning

Sårläkningsfaser

Sårläkning är en komplex men väldokumenterad process. Denna består av fyra faser; hemostas, akut inflammationssvar, proliferationsfas och mognadsfas.

Hemostasen inleds omedelbart för att stoppa blödningen. Det första som sker är att kärlen kontraheras. Denna kontraktion lättar efter en stund så att cirkulerande trombocyter kan fästa till exponerat kollagen och bilda en trombocytplugg. När trombocyterna fäster in till blottat kollagen börjar de svälla samt skicka ut små utskott. Från trombocyterna utsöndras bl a adenosindifosfat (ADP) och tromboxan A_2 . ADP gör trombocyterna mer klibbiga vilket underlättar för fler trombocyter att fästa in och tromboxan A_2 förstärker aggregationen ytterligare. För att stoppa blödningen börjar blodet koagulera. Detta innebär att fibrinogen, som finns i och kring trombocytpluggen, ombildas till fibrin. Fibrin är trådiga, olösliga molekyler som hjälper till att bilda ett nät som fångar in erytrocyter och trombocyter för att bilda ett koagel. Koagulation är något som hålls i balans med hjälp av faktorer som antingen hämmar eller stödjer den. Faktor X som främjar koagulationen förekommer vanligtvis i en inaktiv form tills en skada sker och det aktiveras genom en kaskadreaktion. Faktor X kan aktiveras av ett inre eller yttre aktiveringssystem. Det inre aktiveringssystemet har alla koagulationsfaktorer i blodet och aktiveras vid t ex vävnadsskada. Det yttre aktiveringssystemet startas när ett främmande ämne, en vävnadsfaktor, kommer in i blodbanan t ex även det vid kärlskada. Omvandlingen av fibrinogen till fibrin sker med hjälp av enzymet trombin. Trombin i sin tur är ett aktivt stadium av sin prekursor protrombin som finns i blodet. Aktiveringen av protrombin till trombin görs av faktor X (Sjaastad, 2010).

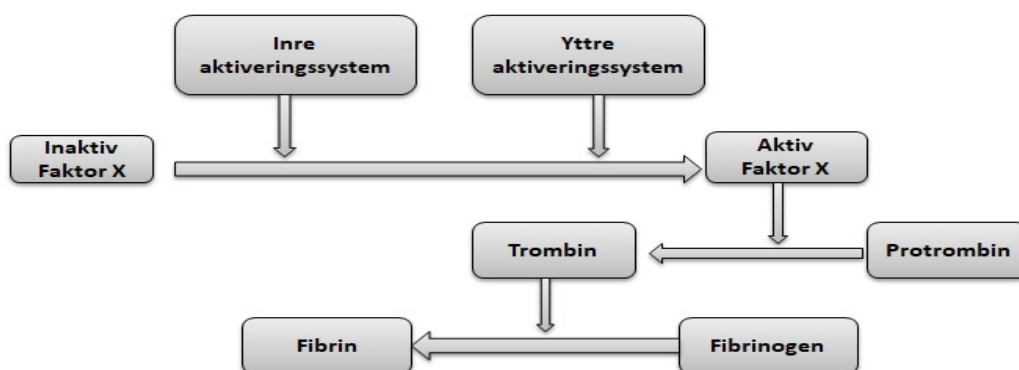


Bild 1. Flödesschema över kaskadreaktionerna sedan faktor X aktiverats. Hur detta leder till bildningen av fibrin och blodets koagulation. Modifierad bild från Sjaastad., (2010).

Efter den initiala kärlkonstriktionen följer en aktiv dilatation av kapillärerna samt en ökad permeabilitet genom att cellförbindelser mellan kärlendotelceller blir mer genomsläppliga. Den ökade genomsläppligheten är en följd av ökade mängder vasoaktiva aminer, komponenter tillhörande komplementsystemet (C3a och C5a), bradykinin, leukotriener, prostaglandiner, trombocytaktiverande faktorer och histamin från mastceller. Vid vasodilatation sänks flödes hastigheten och tillsammans med förändringarna mellan endotelcellerna leder detta till ett ökat utflöde av plasma och plasmaproteiner ut i det extracellulära rummet, så kallat ödem. Beroende på skadans storlek är det detta som orsakar svullnad och smärta då receptorer som registrerar smärta täns ut (Ackermann, 2017).

Ett akut inflammationssvar är helt aktivt inom 24 timmar från skadans uppkomst och kan vara upp till 96 timmar om inte någon komplikation tillstöter (Ackermann, 2017). Rodnad, smärta, svullnad, värmeökning är typiska symtom vid sårskada som beror på kroppens inflammatoriska svar till skadan (Velmar *et al.*, 2009). Makrofager och neutrofiler kommer till platsen och börjar via fagocytos rensa området från debris och devitaliserad vävnad. Makrofager utsöndrar kemotaktiska ämnen såsom tillväxtfaktorer och substanser som attraherar fibroblaster vilka har en viktig roll i proliferationsfasen. Inflammationsfasen är nödvändig även om överdriven infiltration av neutrofiler och makrofager kan hämma läkningen (Ackermann, 2017).

Proliferationsfasen beskrivs som nybildningsfasen. Nya kapillärslyngor bildas, omgivna av fibroblaster. Detta är granulationsvävnad som liknar en röd, knottig hinna i såret. Nybildningen av blodkärl är avgörande, utan dem avstannar sårsläkningen då näring inte kan nå fibroblasterna (Martin & Leibovich, 2005). Om sårsläkningen störs och den inflammatoriska fasen inte kan avslutas kan det leda till överproduktion av granulationsvävnad, hos häst kallat svallkött (Hendrickson, 2012a). Under proliferationsfasen försöker kroppen återskapa den vävnad som skadats eller förlorats. Fibroblasterna i såret har till uppgift att bilda extracellulärt protein, tillväxtfaktorer och ämnen som kontrollerar kärl- och cellnybildningen. De bildar även kollagen och glukosaminoglykaner vilka är viktiga komponenter i bindväv (Martin & Leibovich, 2005).

Några dagar till en vecka efter skadan börjar såret dra ihop sig. Det är fibroblaster och myofibroblaster som bidrar till att såret kontraheras. Detta är en betydelsefull del i sårsläkningen på djur (Hendrickson, 2012a). Det sker även en epitelisering när nybildade epitelceller börjar täcka såret från kanterna och inåt. När såret är täckt övergår såret till mognadsfasen. Mognadsfasen är den sårsläkningsfas som tar längst tid. I denna fas försöker kroppen återställa hållbarheten i vävnaden genom att ordna kollagenfibrerna så att maximal hållfasthet uppnås (Martin & Leibovich, 2005).

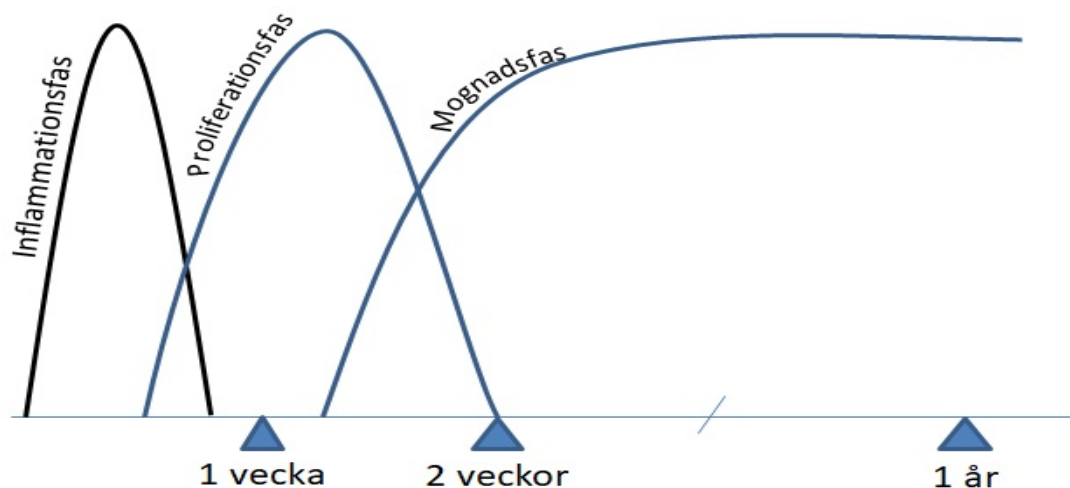


Bild 2. Översikt över sårläkningens faser. Modifierad bild från Provost (2012).

Svullnad och dess konsekvenser

Svullnad är ett allmänt begrepp som beskriver något som ökat i volym, oberoende av vävnad. En typ av svullnad kan vara effusion, vilket definieras av utträde av vätska som samlas i ett hålrum, t ex led- eller pleural effusion. I huden kan svullnader bero på många saker t ex hematom, nybildningar, bråck. Vid sårskador beror svullnaden dock oftast på ödem som en följd av inflammation.

Ödem definieras som ett överflöd av vätska i det interstitiella rummet och kliniskt kan man se en svullnad av huden (Lund *et al.*, 1992). Ödem har flertalet uppkomstmekanismer bl a ökat hydrostatiskt tryck, minskat kolloidosmotiskt tryck, lymfkärlsobstruktion och inflammation (Cho & Atwood, 2002). Bildning av ödem är som störst några timmar från skadan fram till 72 timmar när inflammationsfasen börjar lägga sig (Aras & Güngörmüş, 2010).

Beroende på skada, varierar det inflammatoriska svaret och även graden av ödembildning. T ex vid brännskador är ödembildningen stor. Stora brännskador kan leda till ett systemiskt inflammatoriskt svar som även drabbar frisk vävnad. Det finns då t ex risk för compartment syndrome som innebär att trycket i ett slutet rum ökar så pass att cirkulationen i området påverkas med risk för celldöd (Lund *et al.*, 1992).

Trots att patofysiologin inte är helt fastställd anses ödem vara en stor bidragande faktor till försämrad sårhäkning (Kao & Garner, 2000). De bidragande faktorerna är inte fastställda men det spekuleras kring att balansen i diffusionen mellan kärl och vävnad rubbas (Demling, 2005). Ödem i omkringliggande vävnad tros hindra migrationen av inflammatoriska celler vilket försvårar immunsystemets försvar mot antigen och infektioner. Debris och avfall kanske inte rensas upp optimalt och transporten av näringsämnen mellan kapillärer och celler kan bli påverkad (Ackermann, 2017). I detta arbete kommer ordet svullnad att användas istället för ödem.

Metoder för att utvärdera svullnad

Det finns i dagsläget inte något standardiserat sätt att mäta och utvärdera svullnad, eftersom svullnad kan yttra sig på många sätt (Cho & Atwood, 2002). Det finns dock vissa metoder, mer eller mindre invasiva, som används för att mäta och utvärdera svullnad. Några exempel är ultraljud (Agarwal *et al.*, 2005), måttband (Gasperini *et al.*, 2014; Merigo *et al.*, 2015), visuella skalor (Batinjan *et al.*, 2014) och 3D scanners (van der Meer *et al.*, 2014).

Ultraljud

För att utvärdera effekter på synovit och sekundärt pitting ödem (tydligt ödem i vävnad där man kan lämna avtryck) efter insatt behandling, använde Agarwal *et al.*, (2005) sig av diagnostiskt ultraljud med frekvenser mellan 7,5-10 MHz.

Högfrekvent ultraljud

För att utvärdera sårbäddens tjocklek hos patienter med kroniska trycksår använde sig Young *et al.*, (2013) av högfrekvent (20 MHz) ultraljud. Med hjälp av detta kunde de mäta hur sårbäddens tjockled ändrades och tack vare ultraljudets egenskaper kunde de även registrera hur ödemet runt såret ersattes med mer fibrotisk vävnad.

Måttband

Merigo *et al.*, (2015) använde ett måttband för att utvärdera svullnad efter extraktion av visdomstand. De använde sig av standardiserade mätpunkter i ansiktet (från yttre ögonvinkeln till käkvinkeln, mungipa till käkvinkel och från mungipa till öra). Avståndet mellan dessa mätpunkter mättes med måttband före och efter interventionen.

Även Gasperini *et al.*, (2014) och Landucci *et al.*, (2016) utvärderade svullnad efter käkkirurgi och tandextraktion, genom att mäta ett förbestämt avstånd mellan haka och öra.

Ezzat *et al.*, (2016) konstruerade en egen skala för att utvärdera ödem efter gomkirurgi hos barn. Ödemets utbredning från såret mättes och sorterades sedan in i kategorier 0-4, där 0=inget ödem, 1 = lokalt ödem $\leq 1 \text{ cm}^2$, 2= $1-2 \text{ cm}^2$, 3= $2-4 \text{ cm}^2$ och 4= $\geq 4 \text{ cm}^2$.

Visuell bedömning

Batinjan *et al.*, (2014) använde sig av en erfaren kirurg för att utvärdera svullnad efter att en visdomstand opererats bort i underkäken. Skalan som användes var 0-3, där 0= ingen svullnad, 1= mild, 2= måttlig, 3= kraftig. Inga definitioner för varje kategori fanns, bedömningen gjordes enbart utifrån kirurgens tidigare erfarenhet. Innan studien fick samma person värdera svullnad på 25 bilder vid två tillfällen med en veckas mellanrum. En statistisk beräkning utfördes där det kunde påvisas att bedömningarna vid de två tillfällena överensstämde till 92%.

Optical coherence tomography (OCT)

OCT är en bilddiagnostisk metod som utvecklats för att kunna avbilda biologiska system genom att använda sig av "low coherence interferometry" för att bygga upp en tvådimensionell bild. Likt ultraljud använder ljudvågor använder OCT sig av ljusvågor

(Huang *et al.*, 1991). Utveckling av OCT tekniken gör det nu även möjligt med tredimensionella avbildningar. Andra utvecklingar av tekniken; optical microangiography (OMAG) och OCT lymfangiografi (OLAG) gör det möjligt att se blod- och lymfkärl i vävnaden. Tillsammans ökar detta möjligheten för att kunna beräkna volym av ödem i vävnad (Qin & Wang, 2016).

Volymetrisk utvärdering

Volymetriska utvärderingar sker genom att mäta den faktiska volymen av ett föremål, kroppsdel, genom att sänka ned den i vatten. Detta har bl a använts för att utvärdera ödem i händer hos strokepatienter (Post *et al.*, 2003).

Plethysmometri

Denna metod är speciellt utvecklad för att utvärdera små volymskillnader i rätt- och mustassar. Tassen sänks ned i en speciell kammare med vatten. Vattentrycket i kammaren ändras och maskinen kan räkna om trycket till milliliter (IITC Life Science, 2010). Detta har gjorts bl a för att utvärdera svullnad efter ormgiftinjektion i tass hos möss (Nadur-Andrade *et al.*, 2012).

Optisk 3D- scanner

Optisk 3D- scanner är ett relativt nytt sätt att mäta svullnad. Det finns olika modeller (laser, ”structured light scanner”, stereophoto scanner) men tekniken använder sig av ljusvågor och har blivit ett populärt val bland forskare som vill mäta volym (van der Meer *et al.*, 2014). Denna metod och dess validitet har bl a utvärderats för att mäta svullnad i ansikte efter käkkirurgi (Kau *et al.*, 2006) och ödem vid brännskador (Edgar *et al.*, 2008). Den sistnämnda studien visar dock att den typ av laserscanner som användes inte kan uppfatta de skillnader i svullnad som uppstår vid brännskador på armar.

Olika typer av ljus

Ljus består av vågor av elektromagnetisk strålning. Hur fort vågorna svänger över tid bestämmer vilken våglängd ljuset har, våglängd mäts i nanometer (nm). Ett monokromatiskt ljus är ett ljus med en viss bestämd våglängd. Spektrat för det synliga ljuset har våglängder mellan 380- 740 nm, varav det röda synliga ljuset ligger på våglängder mellan 625- 740 nm. Infraröd strålning ligger i våglängdsintervallet just över det synliga ljuset (700 nm- 1 mm) och UV-ljus ligger i våglängdsintervallet just under det synliga ljuset (100- 400 nm).

Skillnad mellan vanligt ljus, t ex LED, och laser är att laserljus sänds ut i ett begränsat våglängdsintervall, jämfört med en lampa som sänder ut en blandning av ljus i flertalet våglängder. Laserljus har även en liten divergens, det utstrålade ljuset har alltså mindre spridning när det kommer en bit från ljuskällan än vad vanligt ljus har. Detta leder till att laserämnet har en större förmåga till att sända ut fokuserat, intensivt ljus med längre räckvidd. Laserljus är även koherent. Koherens är ett sätt att beskriva ljusvågornas samstämmighet. Till skillnad från icke koherent ljus så har koherent ljus vågor som går i samma frekvens under lång tid och hela tiden är i samma svängningsfas, t ex alla vågtoppar infaller samtidigt. Se bild 3 (Björn, 2007).

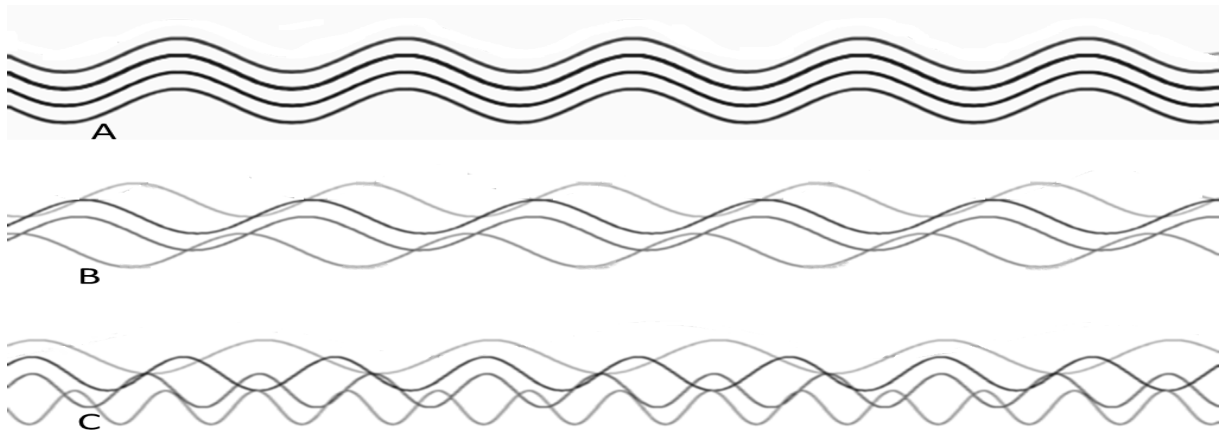


Bild 3. A visar ljusvågor med samma våglängd och som är i samma fas. Detta är ett koherent monokromatiskt ljus t ex laserljus. B visar ljusvågor med samma våglängd men i olika faser. Detta är ett exempel på ett icke koherent monokromatiskt ljus t ex LED ljus med bestämd våglängd. C är ljusvågor med olika våglängder och olika faser, d.v.s. icke koherent ljus t ex ljus från glödlampa. Modifierad bild från [https://sv.wikipedia.org/wiki/Koherens_\(fysik\)\(2015\)](https://sv.wikipedia.org/wiki/Koherens_(fysik)(2015)).

Pulserande eller kontinuerligt ljus

När ljus pulserar uppstår pauser när inget ljus utstrålas. Trots att ledljus för det mesta inte är värmealstrande kan dessa pauser förebygga temperaturhöjningar i huden. Det kan utnyttjas när man vill behandla djupare ner i huden och måste tillföra mer energi, vilket annars kan medföra en ökad värmeutveckling. Det spekuleras om att behandling med pulserande ljus skulle vara mer effektivt än kontinuerligt. Det kan bero på att högre energiimpulser kan skickas ut, tack vare pauserna (Hashmi *et al.*, 2010).

I en review av Hashmi *et al.*, (2010) undersöktes artiklar som bland annat jämfört huruvida pulserande ljus ger annan effekt än kontinuerligt ljus. De flesta artiklar har undersökt laserljus, men vissa aspekter bedöms vara tillämpningsbara även för ledljus. Nio artiklar, med beskrivning av olika interventioner (sår läkning, nervregeneration, effekter efter stroke, smärta, bentillväxt in vitro), jämförde resultat mellan pulserande och kontinuerligt ljus. I sex studier erhöles ett bättre resultat med pulserande ljus. I en artikel upplevdes behandlingarna som lika effektiva och två erhöles bättre resultat med kontinuerligt ljus.

Effekter av ljusbehandling

Det finns många teorier om vad det är som händer när monokromatiskt infrarött och rött synligt ljus träffar huden. Det är fortfarande oklart huruvida det är skillnad i effekt beroende på om ljuset är icke koherent (t ex LED) eller koherent (laser) (Mahmoud *et al.*, 2008). En teori är att ljuset absorberas av fotoreceptorer i huden, det vill säga celler som är mottagliga för ljus. Hos däggdjur är det främst tre molekyler som nämns: myoglobin, hemoglobin och cytokrom c oxidase. Det är främst det synliga röda ljuset som påverkar cytokrom c oxidase, som finns i mitokondriernas elektrontransportkedja. När dessa stimuleras ökar cellens produktion av ATP. Detta resulterar i att en fotostimulerad cell kan arbeta hårdare, genomgå ökad celledelning (Desmet *et al.*, 2006) och påstås bidra till bl. a ökad sår läkningshastighet (Schubert, 2001; Erdle *et al.*, 2008) och hämmad inflammation (Kuboyama *et al.*, 2014; Silveira *et al.*, 2016).

Olika typer av laserbehandling har länge använts i behandlingssyfte. En vanlig typ av laserbehandling är så kallad LLLT, Low Level Laser Therapy. LLLT anses reducera svullnad efter oral kirurgi (Gasperini *et al.*, 2014; Merigo *et al.*, 2015; Landucci *et al.*, 2016), minska smärta efter oral kirurgi (Merigo *et al.*, 2015; Ezzat *et al.*, 2016; Landucci *et al.*, 2016) och påskynda sårsläkning (Andrade *et al.*, 2014). Mekanismerna bakom laserns förmåga att minska svullnad, främst efter kirurgi, är okänd, men LLLT har visats hämma kapillärers och lymfkärls permeabilitet vid närvarande inflammation. Man tror även att strålning leder till en ökad mängd samt diameter av lymfkärl i det behandlade området vilket i sin tur kan ha positiv inverkan på svullnad (Lievens, 1991).

I en review av Kim & Calderhead, (2011) har författarna undersökt effekter av LED och LLLT. Huvudeffekterna av LLLT med våglängd 830 nm sammanfattas till snabbare sårsläkning, ökat inflammatoriskt svar och minskad smärtupplevelse. De beskriver att strålningen av ett område leder till ett accelererat inflammatoriskt svar som är snabbt övergående.

Behandling med kontinuerligt infrarött och synligt rött ljus: effekter på inflammation och svullnad

Kuboyama *et al.*, (2014) undersökte vilka antiinflammatoriska egenskaper LED-ljus kan ha på inducerad artrit hos möss. Artriten inducerades genom upprepade injektioner av bovint kollagen. Behandlingen utfördes på sövda möss och bestod av strålning med kontinuerligt LED- ljus i våglängderna 570 nm och 940 nm av en knäled. Behandlingstiden var 500 sekunder, tre tillfällen i veckan under åtta veckors tid. Svullnaden mättes en gång i veckan genom att mäta benets tjocklek från en lateral aspekt under mikroskop. Nämnas ej om de som utförde mätningarna var blindade. Mössen delades upp i fyra grupper med fem möss i vardera; kontrollgrupp utan inducerad artrit, kontrollgrupp med obehandlad artrit, LED 570 och LED 940. Den största hämningen av svullnad kunde ses efter fyra veckors behandling. Enbart hos LED 940 gruppen kunde man se en signifikant hämning av svullnaden jämfört med den obehandlade gruppen samt LED 570 gruppen. Vid åtta veckor mättes koncentrationer av bl a proinflammatoriska cytokiner (TNF α , IL-1 β , IL-6) via blodprov. Bestrålning med 940 nm sänkte signifikant mängderna av alla cytokiner i blodbanan. Vid jämförelse mellan LED 940 och LED 570 kunde man inte se någon signifikant skillnad mellan cytokinnivåerna.

En brasiliansk studie (Nadur-Andrade *et al.*, 2012) utvärderade skillnad i svullnad och blödning i mustassar, efter injektion med ormgift, tassarna behandlades med LED- ljus och Low Level Laser (LLL). Ormgift injicerades plantart i en baktass och som kontroll injicerades en lika stor mängd koksalt i den andra tassens. Djuren delades in i grupper med 5 djur i varje. Då det förekommer behandling med antiserum ville författarna även prova detta, så vissa grupper behandlades med både antiserum och ljusterapi och andra enbart med ljusterapi. Svullnad mättes innan, vid 15 och 30 min samt 1, 2, 3 och 6 timmar efter injektion, med hjälp av plethysmometri. Nämnas ej om de som utförde mätningarna var blindade. De olika testgrupperna behandlades 30 min och 3 timmar efter injektion med ljusintervention. LLL hade våglängd 685 nm, behandlingstiden var 15 sekunder. LED apparaturen sände ut infrarött ljus med 635 nm i 41 sekunder samt synligt rött ljus med våglängd 945 nm i 38 sekunder.

Angående svullnad så uppnådde den sin maxvolym efter en timme och avtog sedan gradvis under de första sex timmarna, för att vara helt borta efter 24 timmar. Man kunde se en signifikant minskning i ödembildning för alla ljusbehandlingar oberoende om antiserum var administrerat eller inte. Enbart behandling med antiserum gav ingen signifikant skillnad. Man kunde inte se någon signifikant skillnad mellan ljusbehandlingarna. Resultatet talar även för att fotobioestimulering kan ha effekt på svullnad när den redan uppkommit och inte bara hämmar bildandet.

Behandling med pulserande infrarött och synligt rött ljus: effekter på inflammation

I en studie av Oshima *et al.*, (2011) bedömdes graden av osteoartrit hos kaniner efter att man kapat det främre korsbandet. Totalt ingick 14 kaniner varav $n=7$ ingick i kontrollgruppen och $n=7$ i interventionsgruppen. I interventionsgruppen behandlades knäna 10 minuter/gång, 5 dagar i veckan i 5 veckor med pulserande LED- ljus. Man använde sig av två våglängder: 630 nm och 870 nm. Efter avslutade försök tittade man på lårbenets kondyler innan och efter infärgning med bläck för att se om erosioner förekom i brosket. Detta gjordes av tre blindade personer som graderade broskskadorna på en skala mellan 1-4, där 1= slät broskyta, ingen infärgning och 4= stora förluster av brosk och det underliggande benet var synligt. I kontrollgruppen fanns fyra med grad 2, två med grad 3 och en med grad 4. I interventionsgruppen var resultatet två med grad 1 och fem med grad 2. Ingen statistik beräknades, men interventionsgruppen tenderade att ha lägre allvarlighetsgrader på osteoartriten. Inga signifikanta skillnader kunde ses mellan de olika avläsarnas resultat. Med hjälp av RT- PCR (Reverse transcriptase- polymerase chain reaction) kunde man undersöka hur stora uttryck det fanns av inflammatoriska markörer i ledbrosk och vävnad. Resultatet visade en signifikant sänkning av TNF α i interventionsgruppen. Uttrycket av IL- 1 β och MMP-3,13 (matrix metalloproteinaser= kataboliska markörer) uppvisade inga signifikanta skillnader mellan grupperna.

Silveira *et al.* (2016) behandlade brännsår på möss med laser (660 nm och 904 nm) och LED- ljus (632 nm och 850 nm). Behandlingarna började ett dygn efter att såret skapats och pågick dagligen i en veckas tid, d.v.s. totalt 7 behandlingar. Behandlingstid för LED- ljus var 10 minuter för både det synliga röda ljuset (632 nm) och det infraröda ljuset (850nm). Behandlingstiden för laser var 9 sekunder (904 nm) och 20 sekunder (660 nm). Därefter mättes mått på oxidativ- och inflammatorisk stress. Man kunde se att behandling med laser 660 nm och LED 850 nm gav en signifikant minskning av det inflammatoriska svaret (bl a minskning av IL-6) samt minskade parametrar som visar på oxidativ stress.

Behandling med kontinuerlig Low Level Laser Therapy (LLLT): Svullnad och smärta.

Gasperini *et al.*, (2014) undersökte huruvida behandling med LLLT efter bilateral korrigering av käkkirurgi kunde minska den postoperativa svullnaden. Studien bestod av tio deltagare där ena sidan av ansiktet laserbehandlades och den andra sidan lämnades utan behandling. Som behandling användes en low level laser (gallium–aluminium–arsenid diod low level laser). Flera områden kring operationsområdet behandlades både intra- och extraoralt med våglängderna 660 och 789 nm beroende på vilken yta som behandlades.

Patienterna hölls ovetande om vilken sida som behandlades då de blindades med svarta glasögon och hörlurar med musik under behandlingstillfällena. Patienterna fick behandling omedelbart efter operation och 1, 2, och 3 dagar postoperativt. Efter dag 4 erhöll deltagarna tio behandlingar, varav en behandling gavs varannan dag, då med enbart våglängden 780 nm. Avläsning och utvärdering av svullnaden utfördes av en för studien blindad person. Svullnaden mättes genom att mäta avståndet mellan två förbestämda punkter: haka och öra. Avståndet mättes omedelbart efter operation och efter 3, 7, 15 och 30 dagar. Ingen skillnad i svullnad kunde ses direkt efter operationen ($p=0,173$) men signifikanta skillnader i svullnad mellan behandlad och obehandlad sida kunde ses efter 3 ($p=0,019$), 7 ($p=0,005$), 15 ($p=0,047$) och 30 ($p=0,012$) dagar. Smärtan utvärderades genom att patienterna fick skatta sin smärta på en skala 0-10 för de olika ansiktshalvorna omedelbart efter operationen och efter 1, 3 och 7 dagar. Inga skillnader fanns omedelbart efter operationen ($p=0,442$) och 7 dagar ($p=1,0$). Signifikanta skillnader i upplevd smärta fanns dag 1 ($p=0,007$) och 3 ($p=0,007$).

Behandling med pulserande infrarött och synligt rött ljus: Trycksår

I en svensk studie av Schubert (2001) användes ljusterapi bestående av pulserande infrarött och synligt rött ljus 950 nm/ 640 nm som behandling av trycksår grad 2 och 3 (från blåsa till en skada genom alla hudlager) hos äldre människor (>65 år). Deltagarna ($n=72$) delades in i två grupper, där ena gruppens trycksår behandlades med en standardiserad behandling bestående av tryckavlastning, debridering vid behov och grundläggande sårvård. Den andra gruppens sår behandlades med standardbehandling samt ljusterapi. Varje behandling bestod av 9 min strålning av sårytan, fem dagar första veckan och sedan successivt sjunkande antal behandlingar följande veckor tills man utförde en behandling i veckan. Behandlingarna gavs i 10 veckor eller tills såret var läkt. Sårytan mättes en gång i veckan genom att utbildad personal kalkerade av såret på en speciell plast, nämns ej om de som utförde mätningarna visste vilka sår som behandlades. Sårytan beräknades sedan genom planimetri (arean beräknas i dataprogram). Resultatet visade att såren som behandlats med ljusterapi hade en signifikant högre sårläkningshastighet och kortare tid till läkning än såren med enbart standardiserad behandling.

En svensk randomiserad studie (Dehlin *et al.*, 2003) utfördes för att styrka resultaten av föregående studier där man fått signifikanta resultat (Schubert, 2001). Även i denna behandlades trycksår av grad 2 och 3. Antalet deltagare var högre ($n=164$) och patienterna i kontrollgruppen fick placebo. Behandlingstillfällena var fler, 30 tillfällen på 11 veckor, men behandlingstiderna från och med vecka två var kortare, 6 min. Nämns ej om personal som behandlade och utförde kalkeringen av sårytorna var blindade. Uträkning av sårytorna utfördes av en blindad person via planimetri. Resultatet visade inte på någon signifikant skillnad i tid till total sårsläkning mellan intervention- och kontrollgrupp. Man kunde dock se att sår av grad 2 tenderade att läka snabbare än grad 3.

För att bekräfta detta gjordes ytterligare en studie (Dehlin *et al.*, 2007) på enbart trycksår grad 2. Resultaten från den nya studien polades med resultaten från studien Dehlin *et al.* (2003). Totalt deltagarantal blev $n=163$, varav 76 patienter var nya och 87 patienter var från föregående studie. Behandlingarna genomfördes på samma sätt som i den tidigare studien. Resultatet visade en statistisk signifikant skillnad ($p=0,039$) mellan sårytornas storlek mellan

de två grupperna vid vecka 12, till fördel för den ljusbehandlade gruppen. Man kunde dock inte se någon signifikant skillnad i tid mellan att sår var helt läkta. Ingen signifikant skillnad kunde heller ses mellan grupperna i andel patienter med läkta sår.

Fototerapi: Trycksår

En reviewartikel Chen *et al.*, (2014) angående huruvida fototerapi kan ha inverkan på trycksårs läkning består av 7 artiklar varav Schubert (2001) och Dehlin (2003) är två. Andra artiklars ljusbehandlingar innefattade olika typer av laser, LED- ljus och UV-ljus. Studierna genomfördes mellan 1983-2008 och deltagarantalet varierade mellan n=16-198. Resultaten i de olika artiklarna kunde inte polas då behandlingarna varierade och olika fokus angående fokus på resultatet förelåg. Vissa jämförde tid till total läkning, andra mätte sårläkningshastighet. Vilket är resultat som inte kan jämföras direkt med varandra. Studierna ansågs ha låga deltagarantal och brister vid blindning som kan påverka resultaten. Med avseende på detta anser författarna att inga slutsatser kan dras angående olika fototerapiers effekt på trycksår.

Detta resonemang stöds även av statens beredning för medicinsk och social utvärdering (SBU) som 2012 granskat de svenska artiklarna på ämnet (Schubert, 2001; Dehlin *et al.*, 2003, 2007). SBU anser att man inte kan dra några slutsatser om ljusterapi som behandling för svårläkta sår baserat på tidigare nämnda artiklar (SBU, 2012).

MATERIAL OCH METODER

Hästar

I studien ingick åtta varmblodstravare, 6 ston och 2 valacker. Ålder 6-18 år ($11,9 \pm 4,6$ år) och vikt 445-575 kg ($523,6 \pm 43,3$ kg). Alla hästar var utbildningshästar på Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU) och huserade i samma lokaler under liknande förhållanden (spån som strömaterial, utfodringsrutiner, utevistelse i hage). Alla hästar bedömdes som friska innan studien genomfördes. Studien genomfördes mars-april 2017. Försöket är godkänt av Uppsalas djurförsöksetiska nämnd, diarienummer C67/16.

Tekniker

Den medicinska apparatur som användes i denna studie är Biolight¹. Det är en handhållen probe med lysdioder, som över ett område så stort som en hand, sänder ut infrarött och synligt rött ljus med våglängderna 950/ 640 nm. Det finns ett flertal förinställda behandlingsprogram där ljuset sänds ut, med varierande frekvenser och våglängder, beroende på vad man vill behandla (sår, ödem, mm). Enligt behandlingsrekommendationer skulle proben hållas ca 1 cm från såret vid behandling. Distanser på en 1 cm tillverkades och förankrades till probens sidor så ett korrekt och lika avstånd användes på samtliga hästar.

Före och efter projektet kontrollerades våglängderna med hjälp av en spektrometer² från Ångströms Laboratoriet, Uppsala.

Såren fotades dagligen under studietiden med en systemkamera³. Registreringar med diagnostiskt ultraljud utfördes med samma maskin⁴ av samma blindade radiolog dag 0-4, 7, 14, 21, 28 och 36. En 4 cm linjär probe med djupinställning på 2-3 cm, användes. Steril koksalt användes som kontaktmedel. Ultraljudsbilderna behandlades sedan i ett bildbehandlingsprogram⁵ hos SLU.

Protokoll

Två rutor á 6x6 cm rakades på den nedre tredjedelen på vardera sidan om halsen, en på höger och en på vänster sida. Manarna flätades och bands upp för att inte störa läkningsprocessen. Det tilltänkta sårområdet ultraljudades, för att få 0-värde. Alla hästar sederades med en blandning av 4 mg Detomidin (10 mg/ml) och 4 mg Butorfanol (10 mg/ml) intravenöst. Området tvättades med klorhexidinschampoo (Hibiscrub) och klorhexidinsprit. Området bedövades med 40 mg Mepivacain (20 mg/ml), en kvaddel lades subkutan. Samma kirurg tillfogade samtliga sår under sterila förhållanden med hjälp av en biopsipunch med diametern 2 cm.

Varje häst tilldelades ett nummer 1-8 genom lottdragning. Genom slantsingling beslutades vilket sår som skulle behandlas, höger eller vänster (H, V). Det andra såret fungerade som

¹ <http://biolight-equine.se/>

² Thorlabs

³ Canon EOS 550D

⁴ Logiqe GE

⁵ Centricity

individens egen kontroll och lämnades obehandlat. Enbart de som behandlade visste vilket sår som behandlades hos de olika hästarna.

De utvalda sårn behandlades dagligen, 5 dagar i veckan i 4 veckor enligt rekommenderat standardiserat program kallat WOUND. Programmets längd var 4 min 40 sekunder. Båda sårn på varje häst spolades dagligen de första 15 dagarna, och sedan vid behov. En lika stor mängd steril koksaltlösning, varierande från 20-60 ml, användes på båda sårn. Spolningen utfördes med hjälp av en 20 cc spruta och rosa kanyl (1,20 x 40 mm). Då en mekanisk rengöring behövde utföras, gjordes detta på båda sårn. Detta utfördes genom att en kompress fuktad i koksaltlösningen lades på såret och drogs sedan försiktigt bort med mål att avlägsna smuts. Sårskötsel, fotografering och ljusbehandling skedde på uppbunden häst i stallgång. Ultraljud genomfördes på hållen häst i box.

Dag 0-4, 7, 14, 21, 28 och 36 utfördes diagnostiskt ultraljud för att utvärdera svullnad. Ultraljudet utfördes av samma blindade radiolog vid samtliga tillfällen. En bild togs på fyra ställen för varje sår. Proben placerades kranialt, kaudalt, dorsalt och ventralt om sårn. Allteftersom sårn läkte och sårytan minskade följde placeringen av proben sårkanterna. Proben lades aldrig över epitelerad vävnad. Senare mättes svullnaden på ultraljudsbilderna, från kutis till närliggande fascia på underliggande muskler, med hjälp av ett bildhanteringsprogram⁶. Två mätningar utfördes på varje bild. Ett mått i mitten på varje bild (MITT) samt ett ställe där svullnaden var som störst (MAX). Värdena fördes in i ett excelark. Mätningarna på bilderna gjordes av en icke-blindad avläsare. Alla bilder och mätvärden kontrollerades därför av den fortfarande blindade radiologen som tagit bilderna.

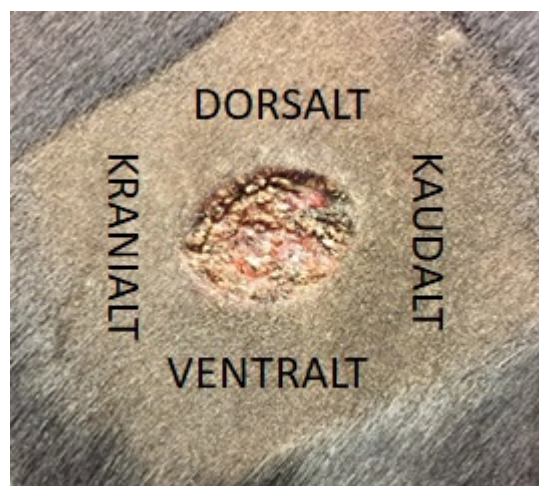


Bild 4. Lokalisering av proben kaudalt, kranialt, dorsalt och ventralt om sårkanterna.

⁶ Centricity

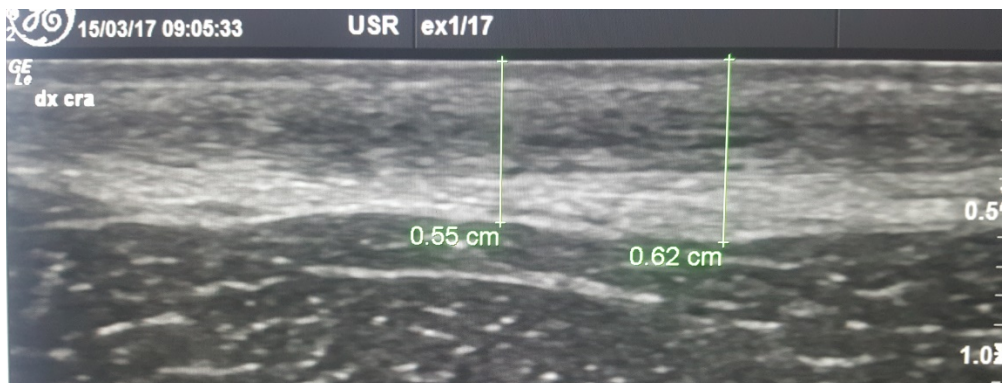


Bild 5. Exempel på hur en ultraljudsbild med införda mätningar ser ut.

Varje dag gjordes en subjektiv bedömning av samtliga sår med avseende på exsudat, storlek (cm), svullnad (cm, höjd*bredd), smärta (palpationsömheter skala 0-4) och lukt av en för behandlingen blindad person. Denna fotograferade såren tillsammans med en linjal i underkant som verkade som referens till den subjektiva bedömningen av svullnad och sårstorlek. En area av svullnaden beräknades av de subjektivt uppskattade värdena, höjd x bredd, där höjden är från sårbädd till hudbäddad sårkant och bredd är från sårkant till normal hud.

Hästarnas temperatur mättes och dokumenterades dagligen av stallpersonal.

Statistisk bearbetning

All insamlad data skickades till statistiker för bearbetning. Då studien går ut på att följa en utveckling mellan två grupper (behandlad och obehandlad) över tid genomfördes en One-way Analysis of Variance (ANOVA) test, vilket är en variationsanalys som ofta används vid hypotesprövning. Vid en ANOVA görs jämförelser mellan de två gruppernas medelvärden för varje tillfälle för att se om det finns signifikanta skillnader. Gräns för signifikans sattes vid $p < 0,05$.

RESULTAT

Inga hästar exkluderades under studiens gång. En häst var stressad vid behandlingen de första dagarna, men vande sig därefter. Ingen annan häst reagerade negativt på behandlingen. Alla resultat nedan presenteras som medelvärden och standardavvikelser.

Svullnadens lokalisation

Den subjektiva bedömningen och ultraljudsbilderna visade att svullnaden främst var lokaliserad ventralt och dorsalt, vilket skapade en avlång form runt såret, se bild 6. Den subjektiva bedömningen pågick till dag 21. Då var svullnaden ventralt och dorsalt kvar, men ingen svullnad kunde noteras kranialt och kaudalt om såret.

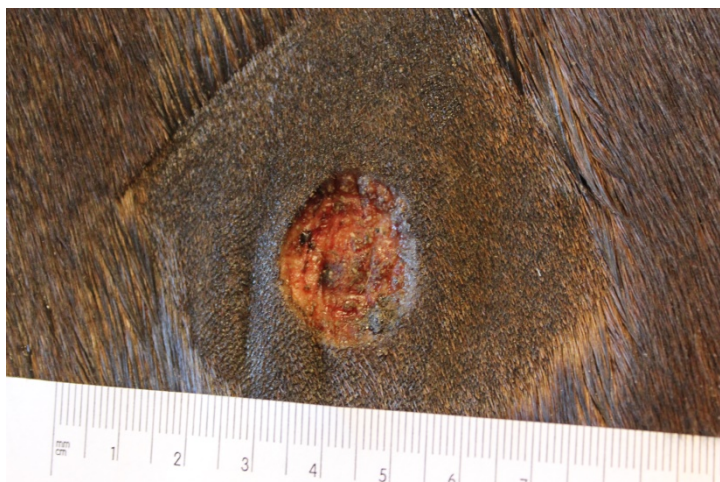


Bild 6. Bild på ett av såren från dag 3. Nederst i bilden syns ett måttband.

Objektiv bedömning av svullnad med diagnostiskt ultraljud

Till en början mättes enbart ett MITT värde på varje bild, men det var tydligt att den djupaste svullnaden ofta inte var lokaliserad till mitten, varpå även ett MAX värde noterades på samtliga bilder.

Vid ultraljudsundersökningen dag 0 var såren ännu inte gjorda, vilket innebär att detta användes som nollvärde. Bilderna togs mitt i den rakade kvadraten, där såren senare placerades. Tjockleken från kutis till fascia varierade MAX vid projektstart mellan 0,23 till 0,67 cm ($0,37 \pm 0,13$ cm). MITT värden varierade från 0,19 till 0,57 cm ($0,3 \pm 0,1$ cm).

För redovisning i denna rapport valdes två sidor ut. Den ventrala sidan, där svullnaden upplevdes som mest långvarig och den kraniala för att se om resultaten kan skiljas åt i ett område med mindre svullnad. Medelvärden för de ventrala och kraniala svullnaderna över tid presenteras i bild 7 och 8. (Vänligen kontakta författaren om data för övriga sidor vill erhållas.)

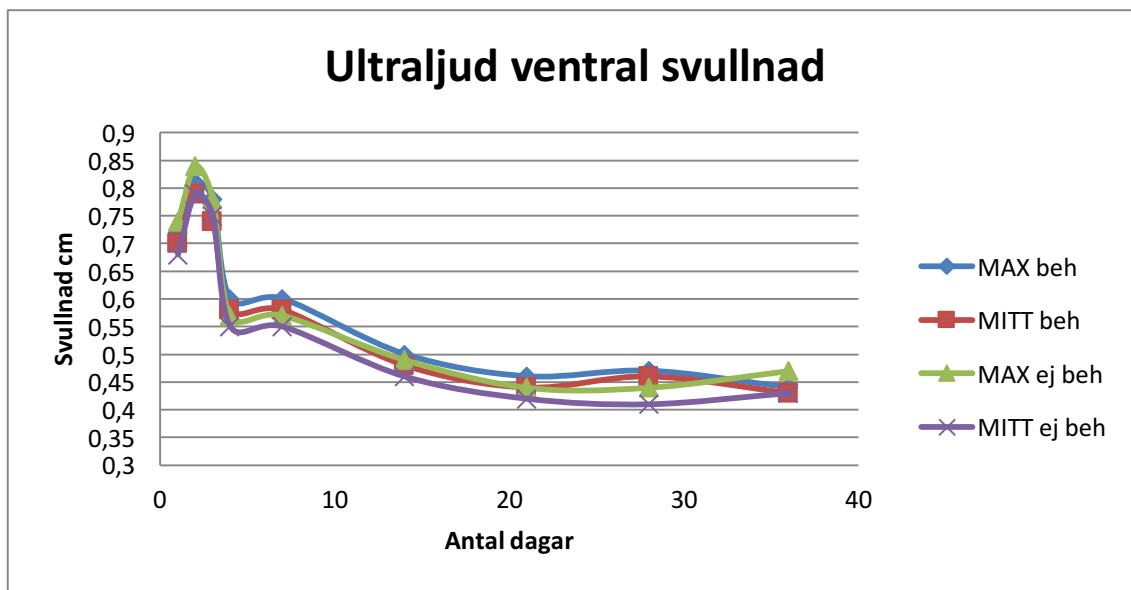


Bild 7. Sammanställning av medelvärden för MAX och MITT av de ventrala svullnadernas tjocklek dag för dag.

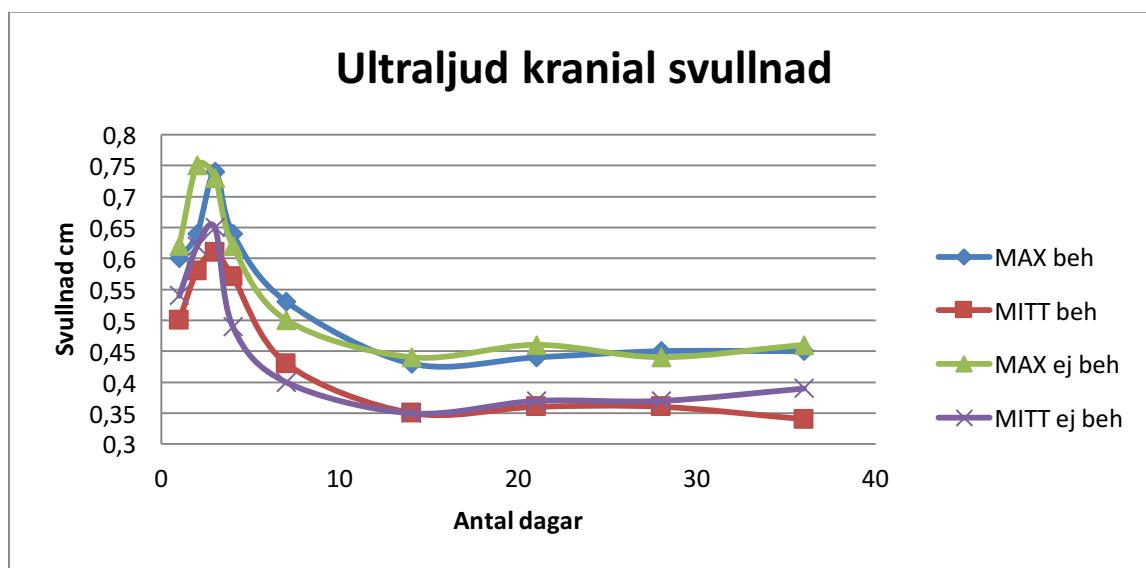


Bild 8. Sammanställning av medelvärden för MAX och MITT av de kraniala svullnadernas tjocklek dag för dag.

För att se om skillnad förelåg ifall man använde sig av antingen MAX eller MITT värden så utfördes ett parat T-test. Detta visade att inga signifikanta skillnader kunde ses för svullnaderna ventralt (behandlad $p=0,77$, obehandlad $p=0,65$) eller kranialt (behandlad $p=0,10$, obehandlad $p=0,12$).

Enligt ANOVA analysen kunde inga signifikanta skillnader ses i svullnad mellan den behandlade och obehandlade sidan (MAX $p=1,0$, MITT $p=0,90$). Inga skillnader kunde heller ses mellan behandlingarna vid var enskild dag. Då svullnaden successivt försvann med tiden kunde en signifikant skillnad utläsas när tiden och enbart lokalisering var de faktorer som jämfördes mot svullnaden (MAX och MITT $p<0,001$).

Subjektiv bedömning av svullnad

Mätningar utfördes från dag 0 efter sårens tillkomst, till dag 21. Efter dag 21 kunde ingen svullnad detekteras med blotta ögat. Från och med dag 1 bedömdes areorna enskilt på vardera sida om såren: kranialt, kaudalt, dorsalt och ventralt.

För redovisning i denna rapport valdes samma sidor som redovisats för ultraljud, ventralt och kranialt. Medelvärden för de subjektiva bedömningarna visas i bild 9 och 10. (Vänligen kontakta författaren om data för övriga sidor vill erhållas.)

Enligt ANOVA analysen kunde inga signifikanta skillnader ses i svullnad mellan den behandlade och obehandlade sidan ($p=0,13$).

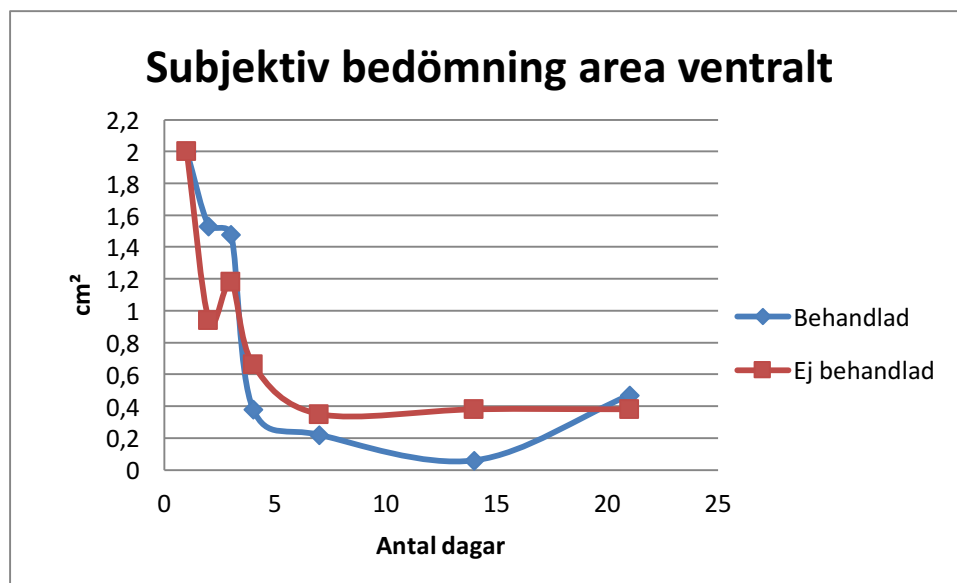


Bild 9. Sammanställning av medelvärden för de subjektivt bedömda areorna ventralt om såren.

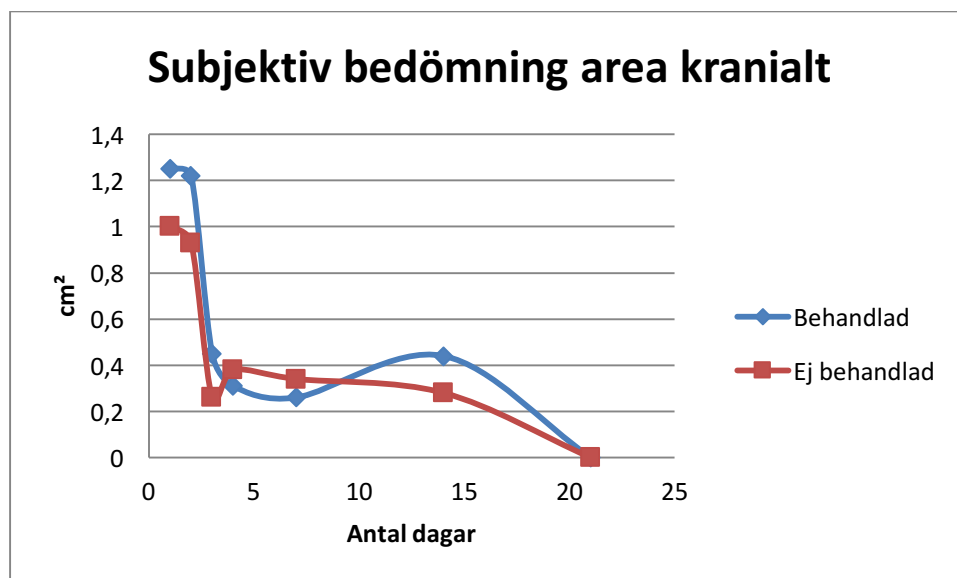


Bild 10. Sammanställning av medelvärden för de subjektivt bedömda areorna kranialt om såren.

DISKUSSION

Sammanfattning

I denna experimentella studie har sår på hästar behandlats med pulserande infrarött och synligt rött ljus med våglängderna 950/ 640 nm för att undersöka dess effekt på svullnad. Varje häst var sin egen kontroll. Mätningar utfördes med hjälp av diagnostiskt ultraljud och subjektivt uppskattade mått på svullnad. Som statistisk analys genomfördes en ANOVA, för att utvärdera resultat över tid. Syftet var att studera om behandling med pulserande infrarött och synligt rött ljus kan minska svullnad och på så sätt främja sårsläkning och minska obehag för hästen.

Svullnadens lokalisation

Svullnaden ventralt om såret fanns kvar längst tid, vilket kan förklaras genom att svullnad förflyttas nedåt med hjälp av gravitationen.

Objektiv bedömning av svullnad med diagnostiskt ultraljud

Mätningen vid dag 0, innan såren, visar att det fanns stora skillnader i hudtjocklek redan från början. Medeltjockleken på hästhud anses vara 0,38 cm. Skillnader kan finnas beroende på vart på kroppen man mäter. Hud nära kroppsöppningar är tunnare och huden vid svans och man är tjockare (Hendrickson, 2012a). Vissa av hästarna har varit med i liknande studier där sår skapats i samma region. Detta kan eventuellt vara en förklaring till att hudtjockleken varierade. Den första mätningen skedde inte på samma plats som följande resterande då den gjordes på platsen för såret, övriga mätningar gjorde på sidorna om såret. Då vi i denna studie inte har undersökt skillnader över tid jämfört med ursprungsvärdet, bedöms det inte påverka resultatet. Däremot skulle resultatet kunna tolkas som att svullnaden inte helt lagt sig efter avslutad studie då tjockleken aldrig går ner till den storlek som fanns vid start.

Inga signifikanta skillnader kunde ses angående svullnad ventralt eller kranialt. Granskas bild 7 och 8 kan man se tendenser till att MAX och MITT för den obehandlade sidan är mindre svullna till och med dag 28.

Det finns skillnader i MAX och MITT värden för registreringarna kranialt om såret, v g se bild 8. MAX värdena för både den behandlade och obehandlade sidan är större än mittvärdena. Detta kan bero på att det är större skillnader mellan MITT och MAX värdena inom varje mätning kranialt om såret, jämfört med registreringarna som gjordes ventralt. En förklaring kan vara att svullnaden flyttades nedåt vilket gav ett jämnare utseende ventralt.

Både ventralt och kranialt uppnår MAX värdena för de obehandlade såren de högsta värdena över tid, båda på dag 2. Då ödembildningen som bidrar till svullnaden tros bero på inflammationsfasen, som är mest aktiv 24-48 timmar efter skada, verkar tidpunkterna för störst svullnad och mest inflammation överensstämma (Ackermann, 2017). Att de behandlade sidorna tenderar att inte vara lika svullna kan vara en tillfällighet- eventuellt att man ser resultat av LED ljusets påstådda antiinflammatoriska egenskaper (Kuboyama *et al.*, 2014; Silveira *et al.*, 2016). När man dock jämför tidsaspekter i tidigare nämnda studier, mellan intervention och när man såg signifikanta skillnader finns det stora olikheter. I Kuboyama *et*

al., 2014 och Silveira *et al.*, 2016 studierna ses de anti-inflammatoriska effekterna efter fyra respektive åtta veckor, vilket inte är tillämpligt i denna studie då skillnader i svullnad borde ses inom minst 72- 96 h. Oshima *et al.*, (2011) som undersökte graden av osteoartrit på kaniner fann signifikanta skillnader i nivåerna av TNF α efter sju dagar. I studien av Nadur-Andrade *et al.*, (2012) där svullnad efter tillförsel av ormgift mättes sågs skillnad i ödembildning redan inom en timme. Det är ändå svårt att dra några slutsatser då skadorna som observerats (osteoartrit, brännskada, ormgift), interventioner (LED och laser) och effekter (cytokinnivåer, broskskador, svullnad) varit olika. Det går heller inte att uttala sig om huruvida funna effekter i tidigare nämnda studier går att översätta till djurslaget häst, då studierna är utförda på mus, kanin och människa.

Ett annat område där det forskas på svullnad är inom odontologi (Merigo *et al.*, 2015) och käkkirurgi (Gasperini *et al.*, 2014). En effektiv behandling av svullnad efter käkkirurgi och extraktioner av visdomständer leder säkert till minskat lidande i det postoperativa förloppet, då det t ex kan bli enklare att få i sig föda. Återigen går det inte att uttala sig huruvida dessa resultat angående svullnad är tillämpliga på hästhud.

Sammanfattningsvis med avseende på kvalitén av de funna studierna kan inga slutsatser dras huruvida ljusterapi kan ha effekt på svullnad hos djurslaget häst.

Subjektiv bedömning av svullnad

Till skillnad från den objektivt uppmätta svullnaden har den subjektivt uppmätta svullnadens area varit störst dag 1. Den objektiva och subjektiva bedömningen skiljer sig vid registreringar av den ventrala lokaliseringen, där man noterat att den behandlade sidan är mindre svullen än den obehandlade sidan från och med dag 4.

Den subjektivt bedömda svullnaden ventralt följer samma trend som den objektiva, med en snabb minskning av svullnaden, för att dag 7 stabilisera sig. Mellan dag 7 och 14 bedöms den ventrala svullnaden minska hos behandlade sår, medan den kraniala bedöms öka, enligt den subjektiva bedömningen. Oklart vad det kan bero på. Hade förhållandena varit tvärtom hade det kunnat bero på att den kraniala svullnaden förflyttat sig ventralt.

Även här är det svårt att dra slutsatser då jämförelserna sker mellan ett djup (objektivt) och en kvadratisk tvärsnittsarea (subjektivt). Då tvärsnittsbilden av svullnaden inte är kvadratisk, kommer detta leda till ett större värde än det sanna. Vilket leder till att vi enbart kan säga något om trenden när vi tittar på denna bedömning och inte kan jämföra värden med varandra. Vid jämförelse mellan bild 7 och 8 med bild 9 och 10, har kurvorna relativt liknande lutning med en snabb minskning av svullnaden de första sju dagarna. Det som skiljer åt är när svullnaden är som störst, vilket upplevs vara dag 1 vid den subjektiva bedömningen på både den ventrala och kraniala svullnaden. Med ultraljud upplevs svullnaden vara som störst efter 2 dagar ventralt och 3 dagar kranialt.

Begränsningar

Stora svårigheter gällande detta examensarbete har varit att hitta liknande artiklar att jämföra resultat med. Inga artiklar hittades som behandlade svullnad i samband med sår hos häst eller

människa. För att samla material har därför utsvävningar gjorts till studier med dels svullnad och inflammation som undersökningsområde. Fokus har även lagts på den aktuella behandlingen och i vilka sorts studier den tillämpats (Schubert, 2001; Dehlin *et al.*, 2003, 2007). Forskning om olika ljusbehandlingar är ett enormt område. En del av svårigheterna har därför varit att sälla material till samma eller liknande behandling. Detta försvåras ytterligare av en bred nomenklatur med många uttryck t ex fototerapi, biostimulering, namnet på de olika behandlingarna (laser, LED, UV, rött ljus, blått ljus, infrarött osv). Vid efterforskningar var det även svårt att hitta artiklar med negativa resultat, för att få en sådan rättvis bild av behandlingen som möjligt. Detta kan kanske förklaras med att det kan vara svårare för studier med negativa resultat att publiceras.

En annan viktig aspekt inom ljusbehandlingar som inte tagits upp tidigare i detta arbete är att ange den givna energin per kvadratcentimeter (W/cm^2) dvs dosen strålning. I detta arbete har fokus legat enbart på behandlingar med liknande våglängder.

En av frågorna i denna studie var huruvida en subjektiv bedömning kunde jämföras med en objektiv, men subjektiva bedömningar är inte precisa och kan vara en felkälla. Har inte hittat någon studie som använder detta till att utvärdera svullnad, men ett alternativ för kommande studier skulle kunna vara att titta på svullnadens utbredning. Ett förslag till förändring kan vara att som i studien av Schubert (2001) försöka kalkera av den faktiska svullnaden för att sedan använda sig av planimetri för att beräkna den totala arean. Det kan finnas svårigheter med att kalkera av svullnad från hud då svullnad ger en konvex yta, vilket även i detta fall kan leda till ett högre värde. Det kan även vara svårt att bedöma var svullnaden tar slut, jämfört med mätning av sårarea där det finns distinkta kanter. Då bedömningar måste göras även här blir värdet någorlunda subjektivt ändå.

Ett annat alternativ kunde vara digital planimetri. Detta innebär att såret med svullnad fotograferas tillsammans med en linjal, för måttreferens, så som det gjordes i aktuell studie, men för att sedan i datorn beräkna arean (Van Hecke *et al.*, 2015). Svullnad kan dock vara svår att utvärdera på fotografi om inte ljusförhållandena är rätt.

Det har varit svårt att hitta litteratur som beskriver ultraljudsmätningar för bedömning av svullnad i hud. Ingen artikel som behandlade svullnad i samband med akuta/traumatiska sår hittades. Kan tänkas att intresset att forska på svullnad vid sårskada är svalt då svullnaden i sig sällan leder till komplikationer i jämförelse med brännsår där stor ödembildning kan ge stora konsekvenser (Kao & Garner, 2000; Demling, 2005).

Ultraljud kan dock vara ett bra sätt att lokalisera och diagnosticera svullnad. Ultraljud har visat sig ha hög sensitivitet för att särskilja mellan svullnader som beror på inflammation, cystiska förändringar, maligna- och benigna nybildningar (Chandak *et al.*, 2011). I utvärderande syfte av svullnad används ultraljud däremot flitigt för leder (Gärtner *et al.*, 2013; Witt *et al.*, 2013) och invärtes organ (Simrén *et al.*, 2017).

Felkällor

En risk för felkälla, som av praktiska skäl var svår att undvika var konfirmeringsbias. I denna studie fick samma människa som gav behandling även läsa av ultraljudsbilderna. Även om det

gått en tid från projektet till avläsning, kan risken inte avskrivas. Denna risk som felkälla försökte kompenseras genom att en radiolog som fortfarande var blindad, kontrollerade alla mätningar i efterhand. Av 1280 mätningar rädde osäkerhet kring 85 stycken. Av dessa korrigerades ca 20 stycken.

En annan risk för felkälla som inte går att förutsäga är hur huden hos de olika individerna ser ut på ultraljudsbilder. Med avseende på vad som skulle mätas hade vissa individer väldigt tydliga lager i huden, vilket hjälpte till vid mätningen. Vissa individer hade väldigt indistinkta gränser mellan subkutis, fascia och muskler. Vid sådana förhållanden gjordes jämförelser mellan bilder för att hitta hållpunkter för att öka säkerheten att mätningarna gjordes från ungefär samma lager. Eventuellt hade viss otydlighet i bilderna kunnat avhjälpas genom att ha ultraljudet inställt på tre cm djup istället för två cm.

Något annat som försvårade avläsningen och kan leda till förhöjda mätvärden av svullnaden, var när mätningen utfördes över ett bindvävstråk. Ödem sprider sig i subkutan vävnad och när vävnaden är mer lucker som i ett bindvävstråk kan det leda till ökad ackumulation av vätska vilket leder till ett förhöjt uppmätt MAX värde.

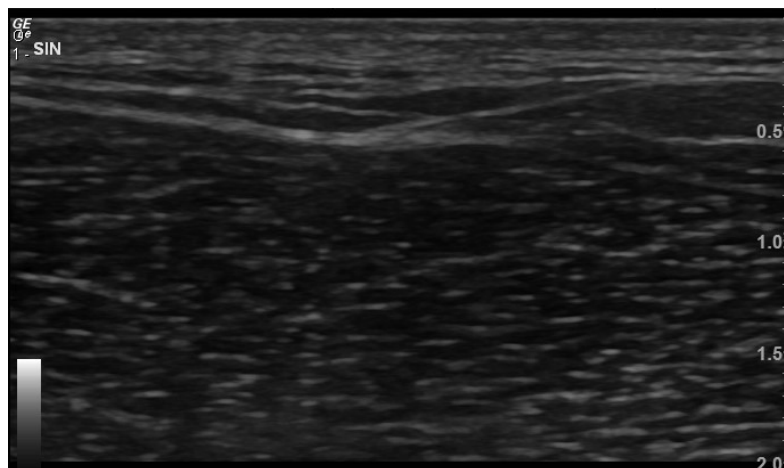


Bild 11. Dag 0. Intakt hud, men ser redan svullen ut.

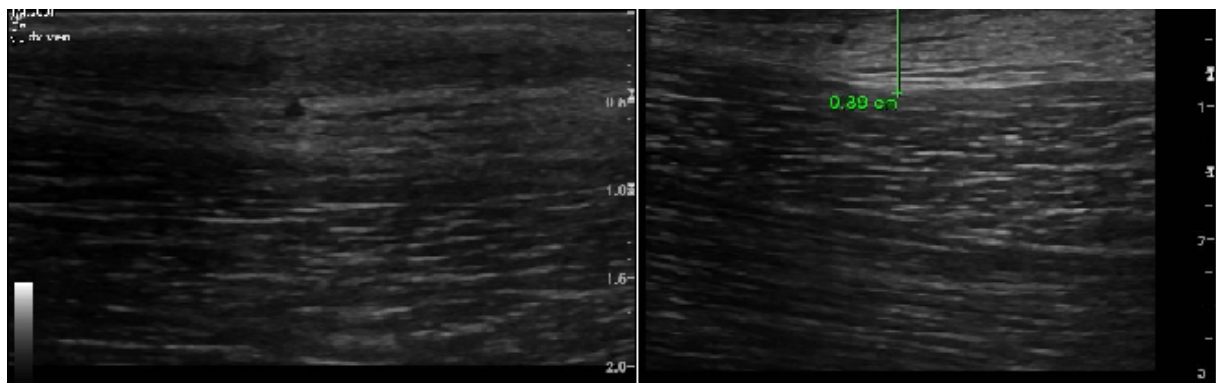


Bild 12. Jämförelse i tydlighet mellan lager beroende på hur djupt ultraljudet når, 2 cm (vänster) och 3 cm (höger).

En svårighet under studiens gång var att hålla såren rena. Hästarna hölls inte installerade under försöket utan hade dagliga utevistelser i hagar. För att minska kontaminering av såren lades förband för att skydda såret från smuts och spån som kunde komma dit när hästarna rullade eller kliade sig. Effekten av detta upplevdes ändå som dålig när det var svårigheter med att få förbandet att sitta kvar under dagen. Variationer finns även i hästarnas beteenden varpå vissa individers sår blev mer kontaminerade än andras. Detta kan leda till mätfel då man med högre kontaminationsgrad riskerar ett kraftigare inflammationssvar och därmed ökad svullnad (Hendrickson, 2012a). Risken är dock mindre att det påverkat resultatet av studien då jämförelser har gjorts med individen som sin egen kontroll.

Förslag på framtida studier

Ett sår som, utan komplikationer, går genom sårläkningsfaserna läker ofta effektivt, men processen kan lätt störas av bakomliggande patologiska faktorer t ex förlängd inflammationsfas, bakteriell tillväxt och vävnadshypoxi med minskad cirkulation (Yadav & Gupta, 2017). Ett sår vars sårläggning försämrats kallas för ett kroniskt sår. Benämningen kronisk har alltså inget direkt samband med hur länge såret funnits, enbart hur sårläggningen fungerar. Hästar kan få liknande komplikationer och då är ofta sårskadorna lokaliserade till benen. Sår på extremiteter riskerar oftare att drabbas av komplikationer såsom förlängd sårläggning på grund av dålig kärlförsörjning, lite hud, mycket rörelse och risk för ökad kontamination (Hendrickson, 2012b). Dehlin *et al.* (2003, 2007) och Schubert (2001) påvisade vissa effekter med ljusbehandling på kroniska trycksår hos människa, dock var studierna inte blindade. Akuta och kirurgiska sår på huden i halsen hos häst brukar oftast läka bra på grund av god vaskularisering och lite dragningar i huden (Hendrickson, 2012a). Kan därför vara av nytta att undersöka hur behandling med pulserande infrarött och synligt rött ljus 950/ 640 nm påverkar sår av mer kronisk karaktär hos häst.

Angående hur svullnad bäst ska mätas och utvärderas objektivt, har det tidigare nämnts metoder som varit mer eller mindre tillämpbara på sårsvullnad hos häst. Plethysmometri är en metod som är speciellt utformat till möss. Volymetrisk utvärdering kan vara svårt att tillämpa vid ett sår på halsen, men kan eventuellt vara aktuellt vid utvärdering av svullnad i benens distala delar t ex från carpus och nedåt. OCT upplevs som en lovande teknik, som kanske kan bli aktuell i framtiden. Scanners verkar även de lovande, speciellt om den har tillräcklig känslighet för att känna av små skillnader i svullnadsgraden. En annan fördel med scanners jämfört med övriga metoder som tagits upp i detta arbete (förutom visuell bedömning) är att sårområdet ej behöver vidröras vid mätning. Även om beröring kanske inte påverkar resultatet så leder det möjligtvis till ett ökat obehag vid mätningstillfällena.

Ljuskällan (Biolight) har, som tidigare nämnts, flera olika ljusprogram för behandling av olika tillstånd. Bl a ett program som specifikt säger sig behandla svullnader och ödem. För en rättvis bild av produkten rekommenderas att detta program används, ifall det skulle bli aktuellt med en ny studie.

För att det statistiska resultatet ska få mer tyngd, vore det önskvärt med ett större deltagarantal för att säkert veta att resultatet är tillämpbart i en större population.

KONKLUSION

Behandling av akuta sår med pulserande infrarött och synligt rött ljus med våglängderna 950/640 nm gav ingen signifikant skillnad i svullnadsgrad mellan behandlade och obehandlade sår utvärderat med diagnostiskt ultraljud samt subjektiv bedömning.

TACK

Vill börja med att skicka ett stort tack till min handledare Anna Bergh som med ett lugn och stort tålamod skänkt inspiration då det känts hopplöst. Även ett stort tack till Helena Treffenberg som utfört ultraljuden och hjälpt till med att dubbelkolla mätningar. Tack även till stallpersonalen som bara visat förståelse när vi dök upp i tid och otid för att behandla hästar. Tack till Ulf Olsson för insatsen med statistiken. Tack till Peter Michanek som också var med och utförde samma studie och delade behandlingsansvaret. Tack till biträdande handledare Elin Hernlund för feedback på skriftliga arbetet. Till sist men inte minst vill jag tacka min familj som ställt upp med husrum när jag kommit hem för att ladda batterierna. Samt till min sambo som stöttat på hemmafronten så att arbetet kunde färdigställas.

REFERENSER

- Ackermann, M. R. (2017). Chapter 3 - Inflammation and Healing¹. In: Zachary, J. F. (Ed) *Pathologic Basis of Veterinary Disease (Sixth Edition)*. p 73–131.e2. Mosby. ISBN 978-0-323-35775-3.
- Agarwal, V., Dabra, A. K., Kaur, R., Sachdev, A. & Singh, R. (2005). Remitting seronegative symmetrical synovitis with pitting edema (RS3PE) syndrome: ultrasonography as a diagnostic tool. *Clinical Rheumatology*, 24(5), pp 476–479.
- Andrade, F. do S. da S. D., Clark, R. M. de O., Ferreira, M. L., Andrade, F. do S. da S. D., Clark, R. M. de O. & Ferreira, M. L. (2014). Effects of low-level laser therapy on wound healing. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 41(2), pp 129–133.
- Aras, M. H. & Güngörmüş, M. (2010). Placebo-controlled randomized clinical trial of the effect two different low-level laser therapies (LLLTh)—intraoral and extraoral—on trismus and facial swelling following surgical extraction of the lower third molar. *Lasers in Medical Science*, 25(5), pp 641–645.
- Batinjan, G., Zore, Z., Čelebić, A., Papić, M., Gabrić Pandurić, D. & Filipović Zore, I. (2014). Thermographic monitoring of wound healing and oral health-related quality of life in patients treated with laser (aPDT) after impacted mandibular third molar removal. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 43(12), pp 1503–1508.
- Biolight Equine*. [online] (Biolight Equine). Available from: <http://biolight-equine.se/anvandning/anvandningsomraden/>. [Accessed 2017-11-01].
- Björn, L. O. (2007). *Photobiology: The Science of Life and Light*. Springer Science & Business Media. ISBN 978-0-387-72655-7.
- Chandak, R., Degwekar, S., Bhowte, R., Motwani, M., Banode, P., Chandak, M. & Rawlani, S. (2011). An evaluation of efficacy of ultrasonography in the diagnosis of head and neck swellings. *Dentomaxillofacial Radiology*, 40(4), pp 213–221.
- Cho, S. & Atwood, J. E. (2002). Peripheral edema. *The American Journal of Medicine*, 113(7), pp 580–586.
- Dehlin, O., Elmståhl, S. & Gottrup, F. (2003). Monochromatic phototherapy in elderly patients: a new way of treating chronic pressure ulcers? *Aging Clinical and Experimental Research*, 15(3), pp 259–263.
- Dehlin, O., Elmståhl, S. & Gottrup, F. (2007). Monochromatic phototherapy: effective treatment for grade II chronic pressure ulcers in elderly patients. *Aging Clinical and Experimental Research*, 19(6), pp 478–483.
- Demling, R. H. (2005). The burn edema process: current concepts. *The Journal of Burn Care & Rehabilitation*, 26(3), pp 207–227.
- Desmet, K. D., Paz, D. A., Corry, J. J., Eells, J. T., Wong-Riley, M. T. T., Henry, M. M., Buchmann, E. V., Connelly, M. P., Dovi, J. V., Liang, H. L., Henshel, D. S., Yeager, R. L., Millsap, D. S., Lim, J., Gould, L. J., Das, R., Jett, M., Hodgson, B. D., Margolis, D. & Whelan, H. T. (2006). Clinical and Experimental Applications of NIR-LED Photobiomodulation. *Photomedicine and Laser Surgery*, 24(2), pp 121–128.
- Edgar, D., Day, R., Briffa, N. K., Cole, J. & Wood, F. (2008). Volume measurement using the Polhemus FastSCAN 3D laser scanning: a novel application for burns clinical research. *Journal of Burn Care & Research: Official Publication of the American Burn Association*, 29(6), pp 994–1000.
- Erdle, B. J., Brouxhon, S., Kaplan, M., Vanbuskirk, J. & Pentland, A. P. (2008). Effects of Continuous-Wave (670-nm) Red Light on Wound Healing. *Dermatologic Surgery*, 34(3), pp 320–325.
- Ezzat, A. E. M., EL-Shenawy, H. M., El-Beghermy, M. M., Eid, M. I., Akel, M. M. & Abbas, A. Y. (2016). The effectiveness of low-level laser on postoperative pain and edema in secondary palatal operation. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 89, pp 183–186.
- Gasperini, G., Rodrigues de Siqueira, I. C. & Rezende Costa, L. (2014). Does low-level laser therapy decrease swelling and pain resulting from orthognathic surgery? *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 43(7), pp 868–873.
- Gärtner, M., Mandl, P., Radner, H., Supp, G., Machold, K. P., Aletaha, D. & Smolen, J. S. (2013). Sonographic Joint Assessment in Rheumatoid Arthritis: Associations With Clinical Joint Assessment During a State of Remission. *Arthritis & Rheumatism*, 65(8), pp 2005–2014.

- Hashmi, J. T., Huang, Y.-Y., Sharma, S. K., Kurup, D. B., De Taboada, L., Carroll, J. D. & Hamblin, M. R. (2010). Effect of pulsing in low-level light therapy. *Lasers in Surgery and Medicine*, 42(6), pp 450–466.
- Hendrickson, D. A. (2012a). Chapter 26 - Management of Superficial Wounds. In: Auer, J. A. & Stick, J. A. (Eds) *Equine Surgery (Fourth Edition)*. pp 306–317. Saint Louis: W.B. Saunders. ISBN 978-1-4377-0867-7.
- Hendrickson, D. A. (2012b). Chapter 27 - Management of Deep and Chronic Wounds. In: Auer, J. A. & Stick, J. A. (Eds) *Equine Surgery (Fourth Edition)*. pp 317–323. Saint Louis: W.B. Saunders. ISBN 978-1-4377-0867-7.
- Huang, D., Swanson, E. A., Lin, C. P., Schuman, J. S., Stinson, W. G., Chang, W., Hee, M. R., Flotte, T., Gregory, K., Puliafito, C. A. & Fujimoto, J. G. (1991). Optical Coherence Tomography. *Science*, 254(5035), pp 1178–1181.
- Kao, C. C. & Garner, W. L. (2000). Acute burns. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 105(7), p 2482–2492; quiz 2493; discussion 2494.
- Kau, C., Cronin, A., Durning, P., Zhurov, A., Sandham, A. & Richmond, S. (2006). A new method for the 3D measurement of postoperative swelling following orthognathic surgery. *Orthodontics & Craniofacial Research*, 9(1), pp 31–37.
- Kim, W.-S. & Calderhead, R. G. (2011). Is light-emitting diode phototherapy (LED-LLLT) really effective? *Laser Therapy*, 20(3), pp 205–215.
- Kuboyama, N., Ohta, M., Sato, Y. & Abiko, Y. (2014). Anti-inflammatory activities of light emitting diode irradiation on collagen-induced arthritis in mice (a secondary publication). *Laser Therapy*, 23(3), pp 191–199.
- Landucci, A., Wosny, A. C., Uetanabaro, L. C., Moro, A. & Araujo, M. R. (2016). Efficacy of a single dose of low-level laser therapy in reducing pain, swelling, and trismus following third molar extraction surgery. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 45(3), pp 392–398.
- Lievens, P. C. (1991). The effect of a combined HeNe and i.r. laser treatment on the regeneration of the lymphatic system during the process of wound healing. *Lasers in Medical Science*, 6(2), pp 193–199.
- Lund, T., Onarheim, H. & Reed, R. K. (1992). Pathogenesis of edema formation in burn injuries. *World Journal of Surgery*, 16(1), pp 2–9.
- Mahmoud, B. H., Hexsel, C. L., Hamzavi, I. H. & Lim, H. W. (2008). Effects of Visible Light on the Skin†. *Photochemistry and Photobiology*, 84(2), pp 450–462.
- Martin, P. & Leibovich, S. J. (2005). Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends in Cell Biology*, 15(11), pp 599–607.
- van der Meer, W. J., Dijkstra, P. U., Visser, A., Vissink, A. & Ren, Y. (2014). Reliability and validity of measurements of facial swelling with a stereophotogrammetry optical three-dimensional scanner. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 52(10), pp 922–927.
- Merigo, E., Vescovi, P., Margalit, M., Ricotti, E., Stea, S., Meleti, M., Manfredi, M. & Fornaini, C. (2015). Efficacy of LLLT in swelling and pain control after the extraction of lower impacted third molars. *Laser Therapy*, 24(1), pp 39–46.
- Nadur-Andrade, N., Barbosa, A. M., Carlos, F. P., Lima, C. J., Cogo, J. C. & Zamuner, S. R. (2012). Effects of photobiostimulation on edema and hemorrhage induced by Bothrops moojeni venom. *Lasers in Medical Science*, 27(1), pp 65–70.
- Oshima, Y., Coutts, R. D., Badlani, N. M., Healey, R. M., Kubo, T. & Amiel, D. (2011). Effect of light-emitting diode (LED) therapy on the development of osteoarthritis (OA) in a rabbit model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 65(3), pp 224–229.
- Plethysmometer Paw Volume Meter Test*. [online]. Available from: <https://www.iitcinc.com/Plethysmometer.html>. [Accessed 2017-11-08].
- Post, M., Visser-Meily, J., Boomkamp-Koppen, H. & Prevo, A. (2003). Assessment of oedema in stroke patients: comparison of visual inspection by therapists and volumetric assessment. *Disability and Rehabilitation*, 25(22), pp 1265–1270.
- Provost, P. J. (2012). Chapter 5 - Wound Healing. In: Auer, J. A. & Stick, J. A. (Eds) *Equine Surgery (Fourth Edition)*. pp 47–61. Saint Louis: W.B. Saunders. ISBN 978-1-4377-0867-7.
- Qin, W. & Wang, R. K. (2016). Assessment of edema volume in skin upon injury in a mouse ear model with optical coherence tomography. *Lasers in Medical Science*, 31(7), pp 1351–1361.

- Schubert, V. (2001). Effects of phototherapy on pressure ulcer healing in elderly patients after a falling trauma. A prospective, randomized, controlled study. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, 17(1), pp 32–38.
- Silveira, P. C. L., Ferreira, K. B., da Rocha, F. R., Pieri, B. L. S., Pedroso, G. S., De Souza, C. T., Nesi, R. T. & Pinho, R. A. (2016). Effect of Low-Power Laser (LPL) and Light-Emitting Diode (LED) on Inflammatory Response in Burn Wound Healing. *Inflammation*, 39(4), pp 1395–1404.
- Simrén, Y., Stokland, E., Lagerstrand, K. M., Valdimarsson, S. & Hansson, S. (2017). Ultrasound is an effective and noninvasive method of evaluating renal swelling in infants with their first urinary tract infection. *Acta Paediatrica*, 106(11), pp 1868–1874.
- Sjaastad, O. V., Hove, K. & Sand, O. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. Scan. Vet. Press. ISBN 978-82-91743-07-3.
- Statens beredning för medicinsk och social utvärdering (SBU); Swedish Agency for Health Technology Assessment and Assessment of Social Services. *Sår: effekten av ljusvågor är ännu dunkel*. [online] (2012-11-28). Available from: <http://www.sbu.se/sv/publikationer/vetenskap--praxis/vetenskap-och-praxis/sar-effekten-av-ljusvagar-ar-annu-dunkel/>. [Accessed 2018-01-19].
- Van Hecke, L. L., De Mil, T. A., Haspeslagh, M., Chiers, K. & Martens, A. M. (2015). Comparison of a new laser beam wound camera and a digital photoplanimetry-based method for wound measurement in horses. *The Veterinary Journal*, 203(3), pp 309–314.
- Velnar, T., Bailey, T. & Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *The Journal of International Medical Research*, 37(5), pp 1528–1542.
- Witt, M., Mueller, F., Nigg, A., Reindl, C., Leipe, J., Proft, F., Stein, N., Hammitzsch, A., Mayer, S., Dechant, C., Schulze-Koops, H. & Grunke, M. (2013). Relevance of Grade 1 Gray-Scale Ultrasound Findings in Wrists and Small Joints to the Assessment of Subclinical Synovitis in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis & Rheumatism*, 65(7), pp 1694–1701.
- Yadav, A. & Gupta, A. (2017). Noninvasive red and near-infrared wavelength-induced photobiomodulation: promoting impaired cutaneous wound healing. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, 33(1), pp 4–13.
- Young, S. R., Hampton, S. & Martin, R. (2013). Non-invasive assessment of negative pressure wound therapy using high frequency diagnostic ultrasound: oedema reduction and new tissue accumulation. *International Wound Journal*, 10(4), pp 383–388.